



INSTAND e.V.

**Gesellschaft zur Förderung der Qualitätssicherung
in medizinischen Laboratorien e. V.**



in Zusammenarbeit mit der
Deutschen Gesellschaft für
Hygiene und Mikrobiologie (DGHM)



INSTITUT FÜR MEDIZINISCHE
MIKROBIOLOGIE UND HYGIENE
Direktor: Prof. Dr. Dr. André Gessner

Regensburg, den 05. Juli 2021

RINGVERSUCHSAUSWERTUNG - Mai 2021

An die Teilnehmer

der INSTAND e.V. Ringversuche Bakterien- und Pilzgenomnachweis PCR / NAT

(INSTAND-Ringversuchsnummern 530 bis 547 sowie 560)

Dear Participant, dear Colleague,

Please find a cover letter in English on page 8 of this document. As always, result tables and brief comments on the current results are kept in a bilingual style.

Sehr geehrte Kolleginnen und Kollegen,

Sie erhalten hiermit die Auswertung des aktuellen INSTAND-Ringversuchs zum Bakteriengenom-Nachweis mittels PCR oder anderer Nukleinsäureamplifikationstechniken.

Ihre individuellen Resultate und deren Bewertung können Sie in gewohnter Weise der beigefügten Teilnahmebescheinigung entnehmen.

Falls Sie an einer etwas umfangreicheren Diskussion unserer Ringversuchsaktivitäten im Bereich "Bakterien- und Pilzgenom-Nachweis" und näheren Informationen zur Konzeption der Ringversuchspuren interessiert sein sollten, sei hier auf die regelmäßigen Veröffentlichungen der Zeitschrift "Der Mikrobiologe" (Herausgeber: BÄMI, Berufsverband der Ärzte für Mikrobiologie und Infektionsepidemiologie e.V.) verwiesen.

Im Zusammenhang mit einer Erweiterung unseres Ringversuchsprogramms und der Gestaltung zukünftiger erregerspezifischer Ringversuche sind wir für alle kritischen Kommentare und Anregungen überaus dankbar. Projekte wie diese wachsen mit dem konstruktiven *feedback* der einzelnen Teilnehmer. Im Voraus vielen Dank für Ihren Kommentar!

Mit freundlichen und kollegialen Grüßen,

Prof. Dr. Udo Reischl

Ringversuchsleiter Bakteriengenomnachweis
Mitglied der Qualitätssicherungskommission der DGHM

**PD Dr. Dr. M. Ehrenschwender, Dr. M. Baier, Prof. Dr. M. Maaß, Dr. R. Dumke, Dr. V. Fingerle,
Prof. Dr. A. Sing, Dr. U. Busch, PD Dr. D. Frangoulidis, Dr. H. von Buttlar, PD Dr. G. Grass,
PD. Dr. H. Scholz, Dr. R. Ehmman, Dr. I. Reiter-Owona, Dr. A. Anders**

Gesamtübersicht und Auswertung der Ringversuchsergebnisse aller Teilnehmer

Neben der Aussendung von lyophilisierten Probenmaterialien zur systematischen Abprüfung von NAT-gestützten Testsystemen für derzeit 19 unterschiedliche bakterielle und fungale Zielorganismen bzw. Pathogenitätsfaktoren gab es im Rahmen dieser Ringversuchsrunde auch wieder gewisse „Highlights“.

So wurden beispielsweise im aktuellen **RV 539 MRSA / cMRSA** eine der vier Proben mit einer Mischung von **MSSA** und **mecA-positiven *S. epidermidis*** Isolaten versetzt. Zudem befand sich in einer Probe ein MRSA Patientenisolat mit der etwas selteneren **SCCmec Typ V** Genkassette. Erfreulicherweise wurden diesmal auch bei dieser methodisch etwas anspruchsvolleren Konstellation relativ wenig falsch-positive bzw. falsch-negative Ergebnisse berichtet und die DNA von MRSA/cMRSA mit den meisten der kommerziellen und *in-house* PCR-Testsysteme zuverlässig nachweisen.

In drei der 4 Einzelproben des aktuellen Ringversuchs **RV 535: *Borrelia burgdorferi*** befanden sich unterschiedlich hohe Mengen der Spezies ***Borrelia spielmanii***. Offenbar bereitete der zuverlässige PCR-gestützte Nachweis dieser dem *B. burgdorferi* sensu lato-Komplex zugehörigen Spezies nur einem sehr geringen Teil der Teilnehmer (bzw. den von ihnen eingesetzten Testsystemen) gewisse Probleme.

Mit der Auswahl eines etwas breiteren Spektrums von relevanten Carbapenemase Genen bestätigte sich im Rahmen des Ringversuchs **RV 544 Carbapenemase Gene** erneut die Vermutung, dass viele der derzeit verwendeten kommerziellen sowie *in-house* Testsysteme zur molekularen Carbapenemase Detektion noch gewisse Lücken hinsichtlich der Abdeckung von unterschiedlichen Carbapenemase Genen aufweisen. Im aktuellen Ringversuch scheint dies insbesondere für das ***K. pneumoniae*** Isolat mit der **Carbapenemase IMP-1** zu gelten. Dieses Isolat wurde aktuell lediglich von 89 der insgesamt 99 Teilnehmer detektiert und als Carbapenemase-positiv befundet. Im Umfeld der molekularen Testung von Carbapenemase Genen unterstützt uns Frau Dr. Agnes Anders vom NRZ für gramnegative Krankenhauserreger weiterhin bei der Auswahl von relevanten "interessanten" klinischen Isolaten.

Alle Teilnehmer sind natürlich weiterhin dazu aufgerufen, attraktive Parameter für eine zukünftige Erweiterung des Spektrums an Zielorganismen vorzuschlagen und deren mögliche Umsetzung mit dem Ringversuchsleiter zu diskutieren.

Für die externe Qualitätssicherung zukünftig kommerziell verfügbarer (und damit wohl auch vermehrt eingesetzten) **PCR/NAT Multiplex-Nachweisverfahren für Urogenital-Infektionen** haben wir seit Mai 2019 den neuen Ringversuch **RV 547 "Urogenital-Panel"** routinemäßig etabliert, der vom Konzept her jeweils einige der nachfolgenden Erreger in unterschiedlichen Kombinationen und Mengen innerhalb des 4-er Panels enthält:

Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Trichomonas vaginalis*, *Gardnerella vaginalis und ggf. ***Treponema pallidum***.

Nach 19 Teilnehmern beim Pilotringversuch 2018 und 68 Teilnehmern im November 2019 haben sich diesmal bereits 97 Teilnehmer registriert. Wir werden uns nach Kräften bemühen, der deutlich steigenden Nachfrage auch bei den zukünftigen Ringversuchsrunden mit ausreichenden Mengen an geeignetem Probenmaterial nachkommen zu können.

► **Aktueller Hinweis:** Nachdem in der Ringversuchsrunde November 2019 die Übermittlung der Ringversuchsergebnisse erstmals von den gewohnten Papierformularen auf unsere **neue online Eingabeplattform** umgestellt wurde und während der aktuellen Befundeingabephase innerhalb des Teilnehmerkreises offenbar nur einige wenige (und dann zumeist auch schnell lösbare) Probleme aufgetreten sind, konnte auch die statistische Dokumentation der einzelnen Ergebnisse und Befundkonstellationen deutlich erweitert werden. Sie haben das sicherlich bereits an den zahlreichen zusätzlichen Grafiken bemerkt, die Sie zusammen mit dem Zertifikat zugesandt bekommen. Daher sollte sich die traditionell umfangreiche schriftliche Dokumentation und Diskussion der einzelnen Erreger- und Pathogenitätsfaktor-spezifischen Ringversuchsteile

weitgehend erübrigen. Im Folgenden werden wir uns daher zukünftig nur noch auf einige wesentliche Auffälligkeiten beschränken. Auch dem Ringversuchsleiter und seinem hochmotivierten Team fällt dieser "Abschied" nicht leicht und wir hoffen dass für die geschätzten Ringversuchsteilnehmerinnen und Teilnehmer damit nicht allzu viel an gern gelesener Information wegfällt.

Da sich das offizielle Layout der schönen orange-farbenen Zertifikate und Statistiken etwas von der bisher gewohnten Form unterscheidet, werden wir **für die Traditionalisten unter Ihnen auch weiterhin die übersichtlichen Tabellen 1 bis 3 in gewohnter Form anfertigen** und online zur Verfügung stellen. Tabelle 1 zeigt dabei die Probenzusammensetzung und das erwartete Ergebnis (Sollwert) mit den entsprechenden Codenummern der Ergebnisbögen. Die von den einzelnen Teilnehmern mitgeteilten Ergebnisse werden in Tabelle 2 nach der Häufigkeit der Mitteilung von positiven oder negativen Ergebnissen, und in Tabelle 3 nach der absoluten Anzahl der richtig positiven und richtig negativen Ergebnisse, sowie deren prozentualen Anteil (Befundhäufigkeit) je Amplifikationssystem bzw. Testkonzept aufgeschlüsselt.

Viele der seriösen Diagnostika-Hersteller geben sich größte Mühe bei der Testentwicklung und klinischen Evaluierung - und sind dann (zurecht) stolz auf die Leistungsdaten ihrer modernen PCR/NAT Assays. Auffällig bei vielen der aktuellen aber auch bei einigen der früheren Ringversuche ist das unterschiedlich gute Abschneiden von Teilnehmern mit ein und demselben kommerziellen, vorkonfektionierten und teilweise auch automatisierten und/oder kartuschenartig geschlossenen Testsystemen. Die meisten dieser Assays sind zudem auch noch IVD zertifiziert - mit allen aufwändigen herstellerseitigen Vorkehrungen zur "zuverlässigen" Durchführung und standardisierten Ergebnisinterpretation. Die auffällige "Streuung der Performance" (bzw. das Auftreten einzelner Ausreißer) unterstreicht aus Sicht des Ringversuchsleiters umso mehr die Bedeutung der Qualitätsstandards, wie beispielsweise das regelmäßige Mitführen von geeigneten Extraktions-, Positiv- und Negativ-Kontrollen sowie Schulungen und kontrollierte Maßnahmen zur Vermeidung von exogenen Kontaminationsmöglichkeiten in PCR/NAT-Arbeitsbereichen, die u.a. im Rahmen der aktuellen RiLiBÄK, der Akkreditierung und der praxisorientiert verfassten MIQ-1 gefordert werden. Deren Sinnhaftigkeit und Stringenz mag aus Anwendersicht ja gelegentlich bezweifelt werden, wird aber in diesen Ringversuchsrunden (sozusagen von neutraler Warte aus) dennoch immer wieder aufs Neue bestätigt. Vielleicht lohnt es sich unter diesen Gesichtspunkten doch wieder mal ein Blick in die MIQ-1 oder die RiLiBÄK um hier und dort noch ungenutztes Potential auszuschöpfen... Maximale diagnostische Sicherheit sollte doch unser aller Prämisse sein und das unnötige bzw. fahrlässige Generieren von falsch-negativen oder falsch-positiven Befunden (und vor allem deren Folgen für die betroffenen Patienten) sind unserer Einschätzung nach durch keine methodischen oder ökonomischen Ausflüchte zu entschuldigen!

Also "nix für ungut" liebe Kolleginnen und Kollegen, wie der Bayer so schön sagt ;-)

MAI 2021:

Entsprechend des Grundgedankens unserer Ringversuchsaktivitäten wurde auch bei der Konzeption des aktuellen Ringversuchs zum "Bakteriengenomnachweis mittels PCR oder anderer Nukleinsäureamplifikationstechniken (NAT)" bei einigen Zielorganismen der Versand von Proben mit relativ niedrigen Erregerzahlen angestrebt. In den aktuellen Ringversuchssets befanden sich daher erneut einige Proben mit relativ geringer Menge folgender Zielorganismen: *Neisseria gonorrhoeae* (Probe # 2115303), *Mycoplasma pneumoniae* (Probe #2115411) sowie *Pneumocystis jirovecii* (Probe # 2115602).

Im Rahmen der Testentwicklung bzw. Testoptimierung können diese Probensätze, u. a. als Qualitätskontrollen oder als standardisierte Sensitivitätsmarker, für die Austestung der unteren Nachweisgrenze von eigenentwickelten Nukleinsäure-gestützten Testsystemen dienen. An dieser Stelle möchten wir auch darauf hinweisen, dass zahlreiche Rückstell-Probensätze der früheren

Ringversuche noch verfügbar sind, und bei Bedarf über den Ringversuchsleiter formlos nachbestellt werden können.

Mit Ausnahme der zuvor erwähnten "grenzwertig positiven" Einzelproben wurden die Mengen der entsprechenden Zielorganismen in den Probensätzen der aktuellen Ringversuchsrunde wieder relativ deutlich über der Nachweisgrenze von "durchschnittlich sensitiven PCR/NAT-Testkonzepten" eingestellt. Diese definieren wir wie folgt: als Richtwert für die Bewertung von Ringversuchsergebnissen gilt das 10- bis 50-fache der unteren Nachweisgrenze durchschnittlich sensitiver PCR-Protokolle unter Standardbedingungen (z.B. 50 µl Block-Cycler Reaktionsansätze, 35 PCR-Zyklen, ggf. entsprechende *real-time* PCR Protokolle; gut evaluierte Primersequenzen).

Bei den meisten Probenmaterialien der aktuellen Ringversuchsrunde stellen falsch-negative Ergebnisse damit einen deutlichen Hinweis auf ernstzunehmende Mängel innerhalb der eingesetzten Verfahren zur Nukleinsäure-Extraktion, Amplifikation und Detektion dar.

Falsch-positive Ergebnisse sind dagegen in der Regel als Hinweis auf eine Kreuzkontamination während der Probenextraktion bzw. -abarbeitung und/oder auf mangelnde Spezifität der eingesetzten Testsysteme zu betrachten.

Für die objektive Bewertung von kommerziellen Testsystemen sollten neben der rein statistischen Betrachtung der mitgeteilten Ringversuchsergebnisse auch die Anzahl und vor allem die methodische bzw. technische Qualifikation der individuellen Teilnehmer berücksichtigt werden. Da wir im Zuge unserer Ringversuche aber das gesamte Spektrum von spezialisierten Expertenlabors bis hin zum "Gelegenheitsanwender" abdecken, müssen die arithmetisch ermittelten Richtigkeitsquoten bei der Bewertung einzelner Testsysteme immer mit einem gewissen Toleranzbereich betrachtet werden.

Zusätzlich stehen für die früheren, für diesen und für alle folgenden Ringversuche eine Reihe zusätzlicher Informationen unter folgender Internetadresse: "www.udo-reischl.de"; Unterpunkt "Auswertung der Ringversuche" und natürlich auch über die Homepage von INSTAND e.V. (www.instand-ev.de) als *pdf*-Files zum freien Download bereit.

An dieser Stelle möchte ich mich noch einmal ausdrücklich bei den geschätzten Kolleginnen und Kollegen für ihre zahlreichen und überaus konstruktiven Kommentare und Anregungen zu den Ausführungen in dieser Ringversuchsdiskussion sowie deren tatkräftige Unterstützung bei der Konzeption und dem Aufbau neuer Ringversuche bedanken.

Erfreulicherweise waren im Rahmen der hier diskutierten Ringversuchsreihe relativ wenig **Auffälligkeiten hinsichtlich der Spezifität und Sensitivität von bestimmten Testkonzepten, und der für den Nachweis verwendeten Zielsequenzen**, zu beobachten. Diese Aspekte wollen wir aktuell und auch zukünftig stichpunktartig auführen und gegebenenfalls kurz diskutieren:

RV 530: *Chlamydia trachomatis* & *Neisseria gonorrhoeae*

Die Ergebnislage des aktuellen Ringversuchs deckt sich weitgehend mit den Beobachtungen aus vorangegangenen Ringversuchen zum kombinierten NAT-gestützten *C. trachomatis* und Gonokokken-Nachweis. In den Proben # 2115302 und # 2115303 zeigten sich vor allem bei Teilnehmern mit dem RNA-gestützten Testkonzept der Fa. Hologic eingeschränkte analytische Sensitivitätsraten für Gonokokken. Werden von Teilnehmern bestimmte NAT-Testsysteme eingesetzt, die erregerspezifische RNA-Zielsequenzen nachweisen oder auf einem RNA-basierten Amplifikationsprozess (TMA; Transcription-Mediated Amplification, o. ä.) beruhen, so kann mit dem hier versandten Probenmaterial offiziell keine regelgerechte Abprüfung der entsprechenden Sensitivitäten unter Routinebedingungen gewährleistet werden. Aber selbst wenn das Herstellungsverfahren unserer Ringversuchsproben primär nicht auf die Stabilisierung von RNA-Molekülen hin optimiert und getestet wurde, so konnten dennoch sowohl bei der aktuellen, wie auch bei den vorhergegangenen Ringversuchsrunden, von vielen Teilnehmern mit RNA-gestützten Testsystemen hohe Richtigkeitsquoten erzielt werden. Aktuell konnten die *C. trachomatis* Zielorganismen von allen der 15 Teilnehmer und die *Neisseria gonorrhoeae* Zielorganismen

lediglich von 2 der 15 Teilnehmer mit RNA-basierten Testsystemen in den 4 ausgesandten Proben erfolgreich nachgewiesen werden. Probe # 2115302 wurde daher als "edukativ" klassifiziert.

Among the *N. gonorrhoeae*-specific results, false-negative results were reported by 14 and 13 of the 277 participants for samples # 2115302 and # 2115303, respectively, which contained a relatively low number of *N. gonorrhoeae* target organisms (1×10^3 CFU/mL and 5×10^3 CFU/mL) next to a significant amount of *C. trachomatis*. Due to the relatively low amounts of GO target organisms ($\sim 1 \times 10^3$ CFU/mL) in sample # 2115302, we have not scored those (false) negative results in the course of issuing the corresponding EQAS certificates.

RV 531: *Chlamydia trachomatis*: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 532: *Bordetella pertussis*: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 533: *Helicobacter pylori*: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 534: *EHEC* / *STEC*: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 535: *Borrelia burgdorferi*:

Probe # 2115353 (*B. spielmanii*; $\sim 5 \times 10^3$ Organismen/mL) wurde aufgrund der geringen Menge an Zielorganismen als "edukativ" klassifiziert.

Due to the relatively low amounts of *B. spielmanii* target organisms (\sim ; $\sim 5 \times 10^3$ organisms/mL) in sample # 2115353, we have not scored (false) negative results in the course of issuing the corresponding EQAS certificates.

RV 536: *Legionella pneumophila*: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 537: *Salmonella enterica*: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 538: *Listeria spp.*: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 539: MRSA

Das MRSA Isolat in der Probe # 2115392 besitzt eine **SCCmec Kasette vom Typ V**, deren terminale Nukleinsäuresequenz sich deutlich von den typischerweise anzutreffenden MRSA Isolaten mit SCCmec Kassettyp I bis IV unterscheidet. Hier wurden lediglich von 231 der insgesamt 279 Teilnehmer richtig-positive Ergebnisse mitgeteilt. Zugegebenermaßen ist dieser SCCmec Typ V unter den in unseren Breiten derzeit vorkommenden bzw. anzutreffenden MRSA Patientenisolaten noch relativ selten. Die Ergebniskonstellation dieses Ringversuchs sollte den diagnostischen Wert von SCCmec-basierten PCR-Testkonzepten in der mikrobiologischen Praxis jedoch nicht schmälern. Ungeachtet des verwendeten Testsystems wurde bei der Erstellung der Zertifikate ein negatives Ergebnis für die Probe # 2115392 nicht als "falsch-negativ" bewertet.

One sample of the current set (# 2115392) contained a relatively high number of an "atypical" **methicillin resistant *S. aureus* SCC mec TypV** isolate (MRSA, PVL-negative, $\sim 5 \times 10^5$ CFU/mL). As expected, the latter organisms were not reliably detected by a number of commercial or *in-house* SCCmec-based assay concepts. Such isolates are admittedly rare and hence false-negative results were not counted in the course of issuing the certificates.

RV 540: *Chlamydia pneumoniae*: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 541: *Mycoplasma pneumoniae*: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 542: *Coxiella burnetii* & *B. anthracis*: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 543: *Francisella tularensis* & *Brucella spp.*: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 544: *Carbapenemase-Gene*

Gewisse Schwächen der gegenwärtig eingesetzten Testsysteme für den molekularbiologischen Nachweis von Carbapenemase Genen zeigten sich bei der Detektion des **IMP-1** positiven *Klebsiella pneumoniae* Isolats. Hier wurden lediglich von 89 der insgesamt 99 Teilnehmer positive Ergebnisse für Carbapenemase Gene berichtet. Da das IMP-1 Gen in vielen der aktuell verfügbaren bzw. routinemäßig eingesetzten Multiplex-PCR/NAT Testformate nicht als Target enthalten ist wurde diese Probe als "edukativ" klassifiziert.

One of the three carbapenemase gene positives of the current distribution, sample # 2115441 (*K. pneumoniae* with an IMP-1 gene) was tested positive by only 89 of the 99 participants. Due to the fact that many of the PCR/NAT assays currently used for molecular detection of carbapenemase genes lack the IMP-1 target sequence, we have not scored those (false) negative results in the course of issuing the corresponding EQAS certificates.

RV 545: *Clostridium difficile*: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 546: VRE: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 547: Urogenital Panel

Im Großen und Ganzen haben die 97 aktuell registrierten Teilnehmer die Erreger in den 4 Einzelproben entsprechend den methodischen Möglichkeiten ihrer Testsysteme zufriedenstellend nachweisen können. Wie aus den statistischen Auswertungen zu entnehmen ist, wurden insgesamt nur sehr wenige (sporadische) falsch-positive oder falsch-negative Ergebnisse berichtet.

Dies bestätigt zum einen die Praktikabilität unseres innovativen Multiplex-Ringversuchskonzepts und spricht zum anderen für die relativ zuverlässige Erfassung der Zielorganismen innerhalb der jeweils testspezifisch abgedeckten Erregerspektren der eingesetzten kommerziellen oder eigenentwickelten PCR/NAT Verfahren.

Wie bereits in der vorhergehenden Ringversuchsdiskussion erwähnt, haben wir für im Rahmen der online-Ergebnisübermittlung des RV 547 eine Option in der Eingabemaske entwickelt, über die die einzelnen Teilnehmer das aktuell erfasste Erregerspektrum ihrer individuellen Testsysteme und Multiplex-Assays während der Ergebniseingabe mitteilen. Für die Erteilung von Zertifikaten macht es nachvollziehbarerweise nur Sinn, dass diejenigen Parameter bewertet und testiert werden, die von den individuellen Teilnehmern im Rahmen ihres diagnostischen Workflows prinzipiell auch als positiv bzw. negativ erfasst werden können.

The concept of this novel EQAS-panel for the detection of the most prominent urogenital pathogens was recently established to meet the demands of current and future multiplex PCR/NAT assay concepts. Regarding the statistical analysis, data presentation and results discussion, we are still in the learning phase to optimize the informative and intuitive depiction of the complex result constellations as well as developing a rational scheme for issuing individual certificates for the participants.

When looking at the results reported by the 97 participants, again a good overall correlation between the expected and the reported results was observed. Briefly, only sporadic false-negative

or false-positive results were observed. In general, false-positive results for given species within the multiplex panel could probably be due to cross-contamination events in the course of sample preparation, amplification or amplicon detection steps.

The online results input mask of RV 547 distributions now contain extra fields where participants should specify the theoretical pathogen spectrum covered by their individual PCR/NAT assay concepts. This extra information will help to consider and fairly assess the broad spectrum of different commercial and *in-house* PCR/NAT assays regarding species coverage, differentiation and multiplex capabilities.

RV 560: *Pneumocystis jirovecii*

Probe # 2115602 (*P. jirovecii*, ~ 1×10^4 Organismen/mL) wurde aufgrund der geringen Menge an Zielorganismen als "edukativ" klassifiziert.

Due to the relatively low amounts of *P. jirovecii* target organisms (~ 1×10^4 organisms/mL), sample # 2115602 was classified "educative" and we have not scored (false) negative results in the course of issuing the corresponding EQAS certificates.

May 2021

To the participants of the
INSTAND external quality assessment scheme (EQAS)
for NAATs in Diagnostic Bacteriology
Bacterial / Fungal Genome Detection (PCR / NAT)
(INSTAND Proficiency Test Numbers 530 to 547, and 560)

Dear Participant, dear Colleague,

Please find enclosed a brief analysis report of the recent proficiency test panel "Bacterial Genome Detection (PCR / NAT)". It summarizes some benchmarks and the overall assessment of results reported by all of the participating laboratories.

The accuracy of your individual results is indicated on your personal certificate issued by INSTAND e.V., Düsseldorf, Germany (attached to this letter).

NEW: The certificates are now **supplemented by a number of statistical analyses and tables with expected and reported results.**

This highly desired scheme for external quality assessment (EQAS) was activated in 2002 by the *German Society of Hygiene and Microbiology* (DGHM) and is now organized by INSTAND e.V., Düsseldorf, Germany. As you can learn from "www.instand-ev.de", this segment of their huge proficiency testing program is open for diagnostic laboratories worldwide.

We are aiming at two validation rounds per year (spring and autumn), a reasonable pricing, and a permanently expanding coverage of relevant bacterial pathogens. Any general or specific comments on sample composition or suggestions on additional bacterial, fungal, or parasitic organisms which should be covered are highly appreciated.

Further information as well as the documented and analysed results of the past rounds of our quality control and proficiency test program "Bacterial Genome Detection (PCR / NAT)" can be downloaded in form of pdf-files at "www.udo-reischl.de", subsection "INSTAND Ringversuche (PCR / NAT)". Although the preferred language of these documents is German, we are aiming to provide at least some key documents and the tables in a bilingual style.

Hopefully you found this kind of external validation benefitting and you will continue to join the future rounds of our EQAS scheme in bacterial genome detection (NAT/ PCR).

If you should have any further questions, please do not hesitate to contact me by e-mail: "udo.reischl@ukr.de"

With best personal regards,



Prof. Dr. Udo Reischl

Organizer of the External Quality Assessment Scheme "Bacterial Genome Detection"
Member of the Quality Assurance Board (DGHM; German Society of Hygiene and Microbiology)

PD Dr. Dr. M. Ehrenschwender, Dr. M. Baier, Prof. Dr. M. Maaß, Dr. R. Dumke, Dr. V. Fingerle, Prof. Dr. A. Sing, Dr. U. Busch, PD Dr. D. Frangoulidis, Dr. H. von Buttlar, PD Dr. G. Grass, PD. Dr. H. Scholz, Dr. R. Ehmman, Dr. I. Reiter-Owona, Dr. A. Anders

**PCR-/NAT *C. trachomatis* & GO
 (RV 530) Mai 2021**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>	<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2115301	++ / ++	<i>Chlamydia trachomatis</i> (~ 5x10 ⁴ IFU/mL) <i>Neisseria gonorrhoeae</i> (~ 5x10 ⁴ CFU/mL)
2115302	++ / +	<i>Chlamydia trachomatis</i> (~ 5x10 ⁴ IFU/mL) <i>Neisseria gonorrhoeae</i> (~ 1x10 ³ CFU/mL)
2115303	+++ / +	<i>Chlamydia trachomatis</i> (~ 1x10 ⁵ IFU/mL) <i>Neisseria gonorrhoeae</i> (~ 5x10 ³ CFU/mL)
2115304	∅ / ∅	<i>Escherichia coli</i> K12

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Chlamydia trachomatis* dargestellt.

Absolute numbers of reported individual results. Note: only the C. trachomatis-specific results are depicted in this table.

<i>n = 277</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>				<i>Inhibition</i>				
	2115301	2115302	2115303	2115304	2115301	2115302	2115303	2115304	
Befund <i>Result</i>									
Positiv	276	277	277	4	n.d.	3	3	3	3
Negativ	0	0	0	273	nein / no	273	274	274	274
Fraglich <i>Questionable</i>	1	0	0	0	ja / yes	1	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwenden verschiedener Methoden. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Chlamydia trachomatis* dargestellt.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods. Note: only the C. trachomatis-specific results are depicted.

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>						NAT richtig negativ	
	2115301		2115302		2115303		2115304	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
Abbott RealTime CT (n = 28)	28	100	28	100	28	100	27	96
BD MAX CT (n = 17)	16	94	17	100	17	100	17	100
HAIN FluoroType CT (n = 22)	22	100	22	100	22	100	22	100
Cepheid Xpert CT (n = 32)	32	100	32	100	32	100	32	100
GeneProof <i>C. trachomatis</i> (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100

Hologic Aptima Combo 2 assay (n =15)	15	100	15	100	15	100	15	100
Mikrogen ampliCube STD (n = 10)	10	100	10	100	10	100	10	100
Roche COBAS 4800 CT (n = 37)	37	100	37	100	37	100	35	95
Roche COBAS 6800 CT (n = 26)	26	100	26	100	26	100	26	100
Sacace C. trachomatis Real TM (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
Seegene Allplex STI Essential (n = 21)	21	100	21	100	21	100	21	100
LightMix CT (n = 6)	6	100	6	100	6	100	6	100
Other commercial tests (n = 41)	41	100	41	100	41	100	41	100
In house PCR assay (n = 12)	12	100	12	100	12	100	11	92

Tabelle 4: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Neisseria gonorrhoeae* dargestellt. Absolute numbers of reported individual results. Note: only the *N. gonorrhoeae*-specific results are depicted in this table

n = 275	Probennummer (Sample no.)					Inhibition			
	2115301	2115302	2115303	2115304		2115301	2115302	2115303	2115304
Befund Result									
Positiv	274	261	262	3	n.d.	3	3	3	3
Negativ	0	14 ¹⁾	13 ¹⁾	271	nein / no	271	272	272	272
Fraglich Questionable	1	0	0	1	ja / yes	1	0	0	0

Tabelle 5: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwenden verschiedener Methoden. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Neisseria gonorrhoeae* dargestellt. Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods. Note: only the *N. gonorrhoeae*-specific results are depicted.

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv True positive results						NAT richtig negativ	
	2115301		2115302		2115303		2115304	
	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%
Abbott RealTime NG (n = 28)	28	100	28	100	28	100	28	100
BD MAX NG (n = 17)	16	94	17	100	17	100	17	100
HAIN FluoroType NG (n = 21)	21	100	21	100	21	100	20	95
Cepheid Xpert NG (n = 33)	33	100	33	100	33	100	33	100
EUROArray STI (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
GeneProof N. gonorrhoeae (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100

Hologic Aptima Combo 2 assay (n= 14)	14	100	2	14	2	14	14	100
Mikrogen ampliCube STD (n = 9)	9	100	9	100	9	100	8	89
Roche COBAS 4800 NG (n = 35)	35	100	35	100	35	100	34	97
Roche COBAS 6800 NG (n = 25)	25	100	25	100	25	100	24	96
Sacace N. gonorrhoeae Real TM (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
Seegene Allplex STI Essential (n = 21)	21	100	21	100	21	100	21	100
Seegene Anyplex II STI-7 (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
LightMix NG (n = 6)	6	100	6	100	6	100	6	100
Other commercial tests (n = 34)	34	100	32	94	33	97	34	100
In house PCR assay (n = 12)	12	100	12	100	12	100	12	100

Comments: ¹⁾ As samples #2115302 contained a low number of *Neisseria gonorrhoeae* target organisms, negative PCR results were not rated “false negative” in this EQAS distribution.

PCR-/NAT *Chlamydia trachomatis*
(RV 531) Mai 2021



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2115311	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
2115312	++	61	<i>Chlamydia trachomatis</i> (~ 1x10 ⁴ IFU/mL)
2115313	+++	61	<i>Chlamydia trachomatis</i> (~ 5x10 ⁴ IFU/mL)
2115314	++	61	<i>Chlamydia trachomatis</i> (~ 1x10 ⁴ IFU/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n = 56</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>				<i>Inhibition</i>				
	2115311	2115312	2115313	2115314	2115311	2115312	2115313	2115314	
Befund <i>Result</i>									
Positiv	0	56	56	56	n.d.	1	1	1	1
Negativ	56	0	0	0	nein <i>no</i>	55	55	55	55
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>						NAT richtig negativ	
	2115312		2115313		2115314		2115311	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
BD MAX CT (n = 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
HAIN FluoroType CT (n = 8)	8	100	8	100	8	100	8	100
Cepheid Xpert CT (n = 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
GeneProof <i>C. trachomatis</i> (n = 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
LightMix CT (n = 6)	6	100	6	100	6	100	6	100
Other commercial tests (n = 24)	24	100	24	100	24	100	24	100
<i>In house</i> PCR assay (n = 6)	6	100	6	100	6	100	6	100

PCR-/NAT *Bordetella pertussis*
(RV 532) Mai 2021



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2115321	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
2115322	++	61	<i>Bordetella pertussis</i> (~ 1x10 ⁴ CFU/mL)
2115323	+++	61	<i>Bordetella pertussis</i> (~ 1x10 ⁵ CFU/mL)
2115324	++++	61	<i>Bordetella pertussis</i> (~ 1x10 ⁶ CFU/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n = 164</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>				<i>Inhibition</i>				
	2115321	2115322	2115323	2115324	2115321	2115322	2115323	2115324	
Befund <i>Result</i>									
Positiv	0	153	162	164	n.d.	0	0	0	0
Negativ	164	10	2	0	nein <i>no</i>	164	164	164	164
Fraglich <i>Questionable</i>	0	1	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwenden verschiedener Methoden.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>						NAT richtig negativ	
	2115322		2115323		2115324		2115321	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
AID CAP Bacteria (n = 6)	6	100	6	100	6	100	6	100
ARGENE <i>Bordetella</i> R-GENE (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
Altona diag. RealStar <i>Bordetella</i> (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
AmpliGnost <i>B. pert.</i> / <i>B. parapert.</i> (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
HAIN FluoroType <i>Bordetella</i> (n = 8)	8	100	8	100	8	100	8	100
Diagenode <i>B. pert.</i> / <i>B. parapert.</i> (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
GeneProof <i>B. pert.</i> / <i>B. parapert.</i> (n = 8)	7	88	8	100	8	100	8	100

Mikrogen ampliCube Resp. panel2 (n=10)	10	100	10	100	10	100	10	100
Solana Bordetella complete assay (n= 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
Seegene Allplex Resp. Panel 4 (n = 13)	8	62	13	100	13	100	13	100
LightMix B. pert. (n = 9)	9	100	9	100	9	100	9	100
RIDAGENE Bordetella (n = 21)	19	90	20	95	21	100	21	100
Other commercial tests (n = 32)	31	97	32	100	32	100	32	100
<i>In house</i> PCR assay (n = 41)	39	95	40	98	41	100	41	100

PCR-/NAT *Helicobacter pylori*
(RV 533) Mai 2021



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2115331	+++	61/72	<i>Helicobacter pylori</i> (~ 5x10 ⁵ CFU/mL) Clarithromycin susceptible (wildtype 23S rDNA sequence)
2115332	∅	62	<i>Campylobacter jejuni</i> (~ 5x10 ⁴ CFU/mL)
2115333	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
2115334	+++	61/71	<i>Helicobacter pylori</i> (~ 5x10 ⁵ CFU/mL) Clarithromycin resistant (GGA mut. in 23S rDNA)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n = 51</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>					<i>Inhibition</i>			
	2115331	2115332	2115333	2115334		2115331	2115332	2115333	2115334
Befund <i>Result</i>									
Positiv	50 ¹⁾	0	0	51 ¹⁾	n.d.	1	1	1	1
Negativ	1	51	51	0	nein <i>no</i>	50	50	50	50
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>				NAT richtig negativ <i>True negative results</i>			
	2115331		2115334		2115332		2115333	
	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%
HAIN GenoType HelicoDR (n = 20)	20	100	20	100	20	100	20	100
Ingenetix H.pylori ClariRes (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
Seegene Allplex H.pylori + ClariR (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
RIDAGENE H.pylori (n = 7)	7	100	7	100	7	100	7	100
Other commercial tests (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
<i>In house</i> PCR assay (n = 13)	12	92	13	100	13	100	13	100

Comments: ¹⁾ Forty-five of the 51 participants reported results for molecular Clarithromycin-susceptibility testing. With the exception of 2 laboratories, all reported results were correct.

**PCR-/NAT EHEC / STEC
 (RV 534) Mai 2021**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.
Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2115341	+++	61 / 71,72,77,78	EHEC (~5x10 ⁵ CFU/mL) (<i>stx-1, stx-2, eae, hlyA</i> and O157 positive)
2115342	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12 (negative for <i>eae</i> and <i>hlyA</i>)
2115343	∅	62	EAEC att (~1x10 ⁵ CFU/mL)
2115344	++	61 / 72	EHEC (~5x10 ⁴ CFU/mL) (<i>stx-2c, eae</i> and <i>hlyA</i> positive)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.
Absolute numbers of reported individual results.

<i>n = 130</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>				<i>Inhibition</i>				
	2115341	2115342	2115343	2115344	2115341	2115342	2115343	2115344	
Befund <i>Result</i>									
Positiv	130	1	7	130	n.d.	0	0	0	0
Negativ	0	129	123	0	nein <i>no</i>	130	130	130	130
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden.
Absolute numbers and relative frequency of true positive and true negative results.

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>				NAT richtig negativ <i>True negative results</i>			
	2115341		2115344		2115342		2115343	
	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%
Amplex eazyplex EHEC complete (n = 5)	5	100	5	100	5	100	3	60
BD MAX Enteric Bacterial Panel (n = 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
BioMerieux BioFire GI Panel (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
HAIN GenoType EHEC (n = 17)	17	100	17	100	16	94	17	100
Seegene Allplex Gast. Bacteria II (n = 9)	9	100	9	100	9	100	7	78
LightMix Modular <i>stx-1/stx-2/eae</i> (n = 6)	6	100	6	100	6	100	5	83
RIDAGENE (n = 38)	38	100	38	100	38	100	38	100
Other commercial tests (n = 9)	9	100	9	100	9	100	9	100
<i>In house</i> PCR assay (n = 39)	39	100	39	100	39	100	37	95

**PCR-/NAT *Borrelia burgdorferi*
 (RV 535) Mai 2021**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.
Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2115351	+++	61	<i>Borrelia spielmanii</i> (~ 5x10 ⁵ organisms/mL)
2115352	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
2115353	+	61	<i>Borrelia spielmanii</i> (~ 5x10 ³ organisms/mL)
2115354	++	61	<i>Borrelia spielmanii</i> (~ 5x10 ⁴ organisms/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.
Absolute numbers of reported individual results.

<i>n = 113</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>					<i>Inhibition</i>			
	2115351	2115352	2115353	2115354		2115351	2115352	2115353	2115354
Befund <i>Result</i>									
Positiv	112	2	107	111	n.d.	1	1	1	1
Negativ	1	111	6	2	nein <i>no</i>	112	112	112	112
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.

NAT-Methode [Code] (total number)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>						NAT richtig negativ	
	2115351		2115353		2115354		2115352	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
HAIN FluoroType <i>Borrelia</i> (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
EliGene <i>Borrelia</i> RT (n = 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
GeneProof <i>B. burgdorferi</i> (n = 26)	26	100	25	96	26	100	25	96
Mikrogen alphaCube <i>Borrelia</i> (n = 12)	12	100	11	92	12	100	12	100
LightMix <i>Borrelia</i> (n = 7)	7	100	7	100	7	100	7	100
Other commercial tests (n = 16)	16	100	13	81	16	100	15	94
<i>In house</i> PCR assay (n = 43)	42	98	42	98	43	100	43	100

**PCR-/NAT *Legionella pneumophila*
 (RV 536) Mai 2021**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2115361	+++	61	<i>Legionella pneumophila</i> SG14 (~ 1x10 ⁶ CFU/mL)
2115362	++	61	<i>Legionella pneumophila</i> SG1 (~ 1x10 ⁵ CFU/mL)
2115363	+	61	<i>Legionella pneumophila</i> SG1 (~ 1x10 ⁴ CFU/mL)
2115364	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n = 115</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>					<i>Inhibition</i>			
	2115361	2115362	2115363	2115364		2115361	2115362	2115363	2115364
Befund <i>Result</i>									
Positiv	114	115	110	3	n.d.	2	2	2	2
Negativ	1	0	5	110	nein <i>no</i>	113	113	113	113
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	2	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.

NAT-Methode [Code] (total number)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>						NAT richtig negativ	
	2115361		2115362		2115363		2115364	
	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%
AID CAP Bacteria (n = 7)	7	100	7	100	7	100	7	100
ARGENE L. pneumo/Cc R-GENE (n = 6)	6	100	6	100	6	100	5	83
AmpliGnost L. pneumophila (n = 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
BioGx auf BD Max (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
GeneProof L. pneumophila (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
Seegene Allplex Resp. Panel 4 (n = 16)	15	94	16	100	16	100	15	94

Tib Molbiol LightMix Legionella (n = 8)	8	100	8	100	7	88	8	100
RIDAGENE Legionella (n = 10)	10	100	10	100	10	100	10	100
Other commercial tests (n = 24)	24	100	24	100	23	96	22	92
<i>In house</i> PCR assay (n = 30)	30	100	30	100	27	90	29	97

**PCR-/NAT *Salmonella enterica*
 (RV 537) Mai 2021**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2115371	++	61	<i>S. enterica</i> ser. typhi (~ 1x10 ⁴ CFU/mL)
2115372	Ø	62	EHEC (~5x10 ⁴ CFU/mL)
2115373	Ø	62	<i>Escherichia coli</i> K12
2115374	++	61	<i>S. enterica</i> ser. enteritidis (~ 1x10 ⁴ CFU/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n = 31</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>				<i>Inhibition</i>				
	2115371	2115372	2115373	2115374	2115371	2115372	2115373	2115374	
Befund <i>Result</i>									
Positiv	29	1	3	29	n.d.	0	0	0	0
Negativ	2	29	28	2	nein <i>no</i>	31	31	31	31
Fraglich <i>Questionable</i>	0	1	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwenden verschiedener Methoden.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>				NAT richtig negativ <i>True negative results</i>			
	2115371		2115374		2115372		2115373	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
BD MAX Enteric Bacterial Panel (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
Seegene Allplex GI-Bacteria (I) (n = 6)	5	83	5	83	6	100	5	83
Seegene Allplex GI-EB Screening (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
RIDAGENE Bacterial Stool Panel (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
Other commercial tests (n = 8)	7	88	7	88	6	75	7	88
<i>In house</i> PCR assay (n = 8)	8	100	8	100	8	100	7	88

**PCR-/NAT *Listeria spp.*
 (RV 538) Mai 2021**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2115381	+++	61 /71	<i>Listeria monocytogenes</i> (~ 1x10 ⁵ CFU/mL)
2115382	+++	61 /74	<i>Listeria innocua</i> (~ 5x10 ⁵ CFU/mL)
2115383	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
2115384	++	61 /71	<i>Listeria monocytogenes</i> (~ 1x10 ⁴ CFU/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n = 45</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>				<i>Inhibition</i>				
	2115381	2115382	2115383	2115384	2115381	2115382	2115383	2115384	
Befund <i>Result</i>									
Positiv	45	7	0	45	n.d.	1	1	1	1
Negativ	0	38 ¹⁾	45	0	nein <i>no</i>	44	44	44	44
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results

NAT-Methode [Code] (total number)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>						NAT richtig negativ	
	2115381		2115382		2115384		2115383	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
Amplex eazyplex CSF direct (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
AmpliGnost <i>L. monocytogenes</i> (n = 3)	3	100	0	0	3	100	3	100
Ingenetix BactoReal <i>L. monocyt.</i> (n = 3)	3	100	0	0	3	100	3	100
Seegene Allplex Meningitis-B (n = 3)	3	100	0	0	3	100	3	100
LightMix <i>L. monocytogenes</i> (n = 6)	6	100	0	0	6	100	6	100
Other commercial tests (n = 7)	7	100	3	43	7	100	7	100
<i>In house</i> PCR assay (n = 21)	21	100	2	10	21	100	21	100

Comments: ¹⁾ Due to the predominant use of *L. monocytogenes*-specific PCR assays, negative PCR results with sample # 2115382 were not rated as "false negative".

**PCR-/NAT MRSA / cMRSA
 (RV 539) Mai 2021**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2115391	∅	62 / 72, 73	MSSA + CoNS (<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> oxa ^R , PVL-neg) (~1x10 ⁵ CFU/mL)
2115392	+++	61 / 72	MRSA SCCmec TypV (<i>S. aureus</i> , oxa ^R , PVL-neg) (~5x10 ⁵ CFU/mL)
2115393	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
2115394	++	61 / 71,72	cMRSA (<i>S. aureus</i> , oxa ^R , PVL-pos) (~5x10 ⁴ CFU/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n = 279</i>	Probennummer (Sample no.)				Inhibition				
	2115391	2115392	2115393	2115394	2115391	2115392	2115393	2115394	
Befund Result									
Positiv	21	231	3	274	n.d.	3	3	3	3
Negativ	251	48	275	4	nein no	276	276	276	276
Fraglich Questionable	7	0	1	1	ja yes	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.

NAT-Methode [Code] (total number)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>				NAT richtig negativ <i>True negative results</i>			
	2115392		2115394		2115391		2115393	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
BD MAX/BD GeneOhm MRSA (n = 40)	6	15	40	100	40	100	40	100
HAIN FluoroType MRSA (n = 14)	14	100	14	100	14	100	14	100
HAIN GenoType MRSA (n = 9)	9	100	8	89	2	22	9	100
Cepheid Xpert / GeneXpert (n = 148)	145	98	147	99	143	97	145	98
r-Biopharm RIDAGENE MRSA (n = 25)	23	92	25	100	23	92	25	100
VELA Sentosa SA Direct MRSA (n = 4)	4	100	4	100	4	100	4	100

Commercial assay kit (n = 24)	20	83	21	88	16	67	23	96
In house PCR assay (n = 15)	10	67	15	100	9	60	15	100

Comments: ¹⁾ Bei Teilnehmern, die die Verwendung eines Testsystems aufgeführt haben, das auf einer getrennten Erfassung von *S. aureus*-spezifischen Markern und dem *mecA* Gen beruht, wurden die als "fraglich" klassifizierten Ergebnisse bei der Erteilung der Zertifikate als "richtig" bewertet.

*For participants who indicated the use of assay concepts for the independent detection of the *mecA* gene and a *S. aureus* species marker gene, "questionable" results were accepted in the course of issuing the official QC certificates.*

**PCR-/NAT *Chlamydia pneumoniae*
 (RV 540) Mai 2021**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2115401	+	61	<i>Chlamydia pneumoniae</i> (~ 1x10 ⁴ IFU/mL)
2115402	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
2115403	+++	61	<i>Chlamydia pneumoniae</i> (~ 5x10 ⁵ IFU/mL)
2115404	∅	62	<i>Chlamydia trachomatis</i> (~ 1x10 ⁵ CFU/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n = 140</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>				<i>Inhibition</i>				
<i>Befund Result</i>	2115401	2115402	2115403	2115404	2115401	2115402	2115403	2115404	
Positiv	140	0	140	4	n.d.	1	1	1	1
Negativ	0	140	0	136	nein <i>no</i>	139	139	139	139
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden.

NAT-Methode [Code] (total number)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>				NAT richtig negativ <i>True negative results</i>			
	2115401		2115403		2115402		2115404	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
AID CAP bacteria (n = 7)	7	100	7	100	7	100	7	100
ARGENE C.pn / M.pn r-gene (n = 8)	8	100	8	100	8	100	7	88
AmpliGnost C. pneumoniae (n = 6)	6	100	6	100	6	100	6	100
BioGx auf BD Max (n = 6)	6	100	6	100	6	100	6	100
GeneProof C. pneumoniae (n = 11)	11	100	11	100	11	100	11	100
Mikrogen ampliCube Resp. panel 1 (n = 8)	8	100	8	100	8	100	7	88
Seegene Allplex Resp. Panel 4 (n = 14)	14	100	14	100	14	100	14	100
LightMix C. pneumoniae (n = 12)	12	100	12	100	12	100	12	100
Other commercial tests (n = 34)	34	100	34	100	34	100	32	94
<i>In house</i> PCR assay (n = 34)	34	100	34	100	34	100	34	100

**PCR-/NAT *Mycoplasma pneumoniae*
 (RV 541) Mai 2021**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.
Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2115411	+	61	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> (~ 5x10 ³ genome copies/mL)
2115412	++	61	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> (~ 5x10 ⁴ genome copies/mL)
2115413	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
2115414	+++	61	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> (~ 5x10 ⁵ genome copies/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.
Absolute numbers of reported individual results.

<i>n = 149</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>				<i>Inhibition</i>				
	2115411	2115412	2115413	2115414	2115411	2115412	2115413	2115414	
Befund <i>Result</i>									
Positiv	146	149	3	149	n.d.	1	1	1	1
Negativ	3	0	146	0	nein <i>no</i>	148	148	148	148
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.

NAT-Methode [Code] (total number)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>						NAT richtig negativ	
	2115411		2115412		2115414		2115413	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
AID CAP bacteria (n = 7)	7	100	7	100	7	100	7	100
ARGENE C.pn / M.pn r-gene (n = 8)	8	100	8	100	8	100	8	100
AmpliGnost M. pneumoniae (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
BioGx auf BD Max (n = 7)	7	100	7	100	7	100	7	100
GeneProof M. pneumoniae (n = 10)	10	100	10	100	10	100	10	100
Luminex MagPix Resp. Pathogen (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
Mikrogen ampliCube Resp. panel 1 (n=8)	8	100	8	100	8	100	8	100
Seegene Allplex Resp. Panel 4 (n = 13)	13	100	13	100	13	100	13	100
LightMix M. pneumoniae (n = 12)	12	100	12	100	12	100	12	100

RIDAGENE <i>M. pneumoniae</i> (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
Other commercial tests (n = 29)	28	97	29	100	29	100	27	93
<i>In house</i> PCR assay (n = 40)	38	95	40	100	40	100	39	98

**PCR-/NAT *C. burnetii* & *B. anthracis*
 (RV 542) Mai 2021**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.
Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>	<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2015421	++ / ++	<i>Coxiella burnetii</i> (~ 1x10 ⁴ genome copies/mL) <i>B. anthracis</i> UR-1 Stamm (~ 1x10 ⁴ genome copies/mL)
2015422	∅ / ∅	<i>Escherichia coli</i> K12
2015423	∅ / +++	<i>B. anthracis</i> UR-1 Stamm (~ 1x10 ⁵ genome copies/mL)
2015424	+++ / ∅	<i>Coxiella burnetii</i> (~ 5x10 ⁵ genome copies/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Coxiella burnetii* dargestellt.
Absolute numbers of reported individual results.

*Note: only the **C. burnetii-specific results** are depicted in this table*

<i>n = 51</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>					<i>Inhibition</i>			
	2115421	2115422	2115423	2115424		2115421	2115422	2115423	2115424
Befund <i>Result</i>									
Positiv	51	0	0	51	n.d.	1	1	1	1
Negativ	0	51	51	0	nein <i>no</i>	50	50	50	50
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Coxiella burnetii* dargestellt.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.

*Note: only the **C. burnetii-specific results** are depicted in this table.*

NAT-Methode [Code] (total number)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>				NAT richtig negativ <i>True negative results</i>			
	2115421		2115424		2115422		2115423	
	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%
Progenie RealCycler <i>C. burnetii</i> (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
LightMix <i>C. burnetii</i> (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Other commercial tests (n = 9)	9	100	9	100	9	100	9	100
<i>In house</i> PCR assay (n = 37)	37	100	37	100	37	100	37	100

Tabelle 4: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Bacillus anthracis* dargestellt.

Absolute numbers of reported individual results.

Note: only the *B. anthracis*-specific results are depicted in this table

<i>n</i> = 24	Probennummer (Sample no.)					Inhibition			
	2115421	2115422	2115423	2115424		2115421	2115422	2115423	2115424
Befund <i>Result</i>									
Positiv	23	0	24	0	n.d.	0	0	0	0
Negativ	1	24	0	24	nein <i>no</i>	24	24	24	24
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 5: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Bacillus anthracis* dargestellt.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.

Note: only the *B. anthracis*-specific results are depicted in this table.

NAT-Methode [Code] (total number)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>				NAT richtig negativ <i>True negative results</i>			
	2115421		2115423		2115422		2115424	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
Altona RealStar Anthrax (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
LightMix B. anthracis (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Other commercial tests (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
<i>In house</i> PCR assay (n = 15)	14	93	15	100	15	100	15	100

**PCR-/NAT *F. tularensis* & *Brucella*
 (RV 543) Mai 2021**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>	<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2115431	∅ / ∅	<i>Escherichia coli</i> K12
2115432	∅ / +++	<i>Brucella melitensis</i> (~ 5x10 ⁴ CFU/mL)
2115433	+++ / ∅	<i>Franc. tularensis subsp. novicida</i> (~ 5x10 ⁵ CFU/mL)
2115434	++ / ++	<i>Franc. tularensis subsp. novicida</i> (~ 1x10 ⁴ CFU/mL) <i>B. melitensis</i> (~ 5x10 ³ CFU/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Francisella tularensis* dargestellt.

Absolute numbers of reported individual results.

*Note: only the **F.tularensis-specific results** are depicted in this table*

<i>n = 33</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>					<i>Inhibition</i>			
	2115431	2115432	2115433	2115434		2115431	2115432	2115433	2115434
Befund <i>Result</i>									
Positiv	0	0	33	33	n.d.	0	0	0	0
Negativ	33	33	0	0	nein <i>no</i>	33	33	33	33
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Francisella tularensis* dargestellt.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.

*Note: only the **F.tularensis-specific results** are depicted in this table.*

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>				NAT richtig negativ <i>True negative results</i>			
	2115433		2115434		2115431		2115432	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
LightMix <i>F. tularensis</i> (n = 7)	7	100	7	100	7	100	7	100
Commercial assay / kit [27] (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
<i>In house</i> PCR assay (n = 25)	25	100	25	100	25	100	25	100

Tabelle 4: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Brucella* dargestellt.

Absolute numbers of reported individual results.

Note: only the *Brucella-specific results* are depicted in this table

<i>n</i> = 31	Probennummer (Sample no.)					Inhibition			
	2115431	2115432	2115433	2115434		2115431	2115432	2115433	2115434
Befund <i>Result</i>									
Positiv	0	29	0	30	n.d.	0	0	0	0
Negativ	31	2	31	1	nein <i>no</i>	31	31	31	31
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 5: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Brucella* dargestellt.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.

Note: only the *Brucella-specific results* are depicted in this table.

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>				NAT richtig negativ <i>True negative results</i>			
	2115432		2115434		2115431		2115433	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
LightMix Brucella Genus (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Commercial assay / kit [27] (n = 4)	3	75	4	100	4	100	4	100
<i>In house</i> PCR assay (n = 25)	24	96	24	96	25	100	25	100

PCR-/NAT Carbapenemasen (RV 544) Mai 2021



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2115441	+++	61 / 76	<i>K. pneumoniae</i> IMP-1 (~ 1x10 ⁷ genome copies/mL)
2115442	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
2115443	+++	61 / 72	<i>Citr. freundii</i> complex VIM-2 (~ 1x10 ⁷ genome copies/mL)
2115444	+++	61 / 73	<i>K. pneumoniae</i> OXA-245 (~ 1x10 ⁷ genome copies/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n = 99</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>				<i>Inhibition</i>				
	2115441	2115442	2115443	2115444	2115441	2115442	2115443	2115444	
<i>Befund Result</i>									
Positiv	89	1	98	93	n.d.	2	2	2	2
Negativ	10	98	1	6	nein no	97	97	97	97
Fraglich Questionable	0	0	0	0	ja yes	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>						NAT richtig negativ	
	2115441		2115443		2115444		2115442	
	<i>Absolut Absolute</i>	%	<i>Absolut Absolute</i>	%	<i>Absolut Absolute</i>	%	<i>Absolut Absolute</i>	%
AID Carbapenemase (n = 4)	2	50	4	100	4	100	4	100
eazyplex superbug complete A/B/C(n=9)	4	44	9	100	4	44	9	100
Cepheid Xpert Carba-R (n = 58)	58	100	57	98	58	100	57	98
Seegene Allplex Entero-DR (n = 7)	6	86	7	100	7	100	7	100
LightMix Modular Carbapenemase (n= 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
Other commercial tests (n = 5)	4	80	5	100	4	80	5	100
<i>In house</i> PCR assay (n = 11)	10	91	11	100	11	100	11	100

Comments: ²⁾ One participant has wrongly reported detection of the NDM gene in samples # 2115443 and # 2115444.
³⁾ One participant has wrongly reported detection of the VIM gene in sample # 2115442.

PCR-/NAT *Clostridium difficile*
(RV 545) Mai 2021



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2115451	+	61 / 71,72	<i>Clostridium difficile</i> (~ 5x10 ³ CFU/mL)
2115452	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
2115453	++	61 / 71,72	<i>Clostridium difficile</i> (~ 5x10 ⁴ CFU/mL)
2115454	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n = 186</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>				<i>Inhibition</i>				
	2115451	2115452	2115453	2115454	2115451	2115452	2115453	2115454	
Befund <i>Result</i>									
Positiv	181	2	185	2	n.d.	2	2	2	2
Negativ	5	184	1	184	nein <i>no</i>	184	184	184	184
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>				NAT richtig negativ <i>True negative results</i>			
	2115451		2115453		2115452		2115454	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
Altona RealStar <i>C. difficile</i> (n = 5)	5	100	5	100	5	100	4	80
Amplex eazyplex <i>C. difficile</i> (n = 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
BD MAX <i>C. difficile</i> (n = 22)	21	95	22	100	21	95	22	100
Cepheid Xpert <i>C. difficile</i> (n = 74)	73	99	74	100	74	100	73	99
Meridian Bioscience Alethia (n = 8)	8	100	8	100	8	100	8	100
Quidel Solana <i>C. difficile</i> (n = 5)	3	60	5	100	5	100	5	100
Seegene Allplex GI Bacteria (n = 8)	8	100	8	100	8	100	8	100

RIDAGENE C.diff. (n = 20)	20	100	19	95	20	100	20	100
RIDAGENE Hospital stool panel (n = 6)	6	100	6	100	6	100	6	100
Other commercial tests (n = 19)	18	95	19	100	18	95	19	100
<i>In house</i> PCR assay (n = 15)	15	100	15	100	15	100	15	100

**PCR-/NAT VRE
 (RV 546) Mai 2021**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2115461	++	61 / 71	<i>Enterococcus faecalis</i> vanA (~ 1x10 ⁴ CFU/mL)
2115462	++	61 / 72	<i>Enterococcus faecium</i> vanB (~ 5x10 ⁴ CFU/mL)
2115463	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
2115464	++	61 / 71	<i>Enterococcus avium</i> vanA (~ 5x10 ⁴ CFU/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n = 72</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>				<i>Inhibition</i>				
<i>Befund Result</i>	<i>2115461</i>	<i>2115462</i>	<i>2115463</i>	<i>2115464</i>	<i>2115461</i>	<i>2115462</i>	<i>2115463</i>	<i>2115464</i>	
Positiv	70 ¹⁾	68 ¹⁾	1	66 ¹⁾	n.d.	1	1	1	1
Negativ	2	4	71	4	nein no	71	71	71	71
Fraglich Questionable	0	0	0	2	ja yes	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>						NAT richtig negativ	
	2115461		2115462		2115464		2115463	
	<i>Absolut Absolute</i>	<i>%</i>	<i>Absolut Absolute</i>	<i>%</i>	<i>Absolut Absolute</i>	<i>%</i>	<i>Absolut Absolute</i>	<i>%</i>
HAIN GenoType Enterococcus (n = 10)	10	100	9	90	5	50	9	90
Cepheid Xpert vanA / vanB (n = 29)	29	100	29	100	29	100	29	100
Seegene Allplex Entero-DR (n = 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
TIB Molbiol LightMix Kit (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Other commercial tests (n = 9)	9	100	7	78	9	100	9	100
<i>In house</i> PCR assay (n = 18)	16	89	17	94	17	94	18	100

Comments: ¹⁾ Seventy-one participants reported dedicated vanA / vanB identification. With the exception of 6 laboratories, all reported results were correct.

PCR-/NAT Urogenital Panel (RV 547) Mai 2021



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>	<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2115471	+++	<i>Gardnerella vaginalis</i> (~ 1x10 ⁵ CFU/mL)
2115472	++	<i>Ureaplasma parvum</i> (~ 5x10 ³ CFU/mL)
2115473	∅	<i>Chlamydia trachomatis</i> (~ 1x10 ⁴ IFU/mL)
2115474	+++	<i>Mycoplasma genitalium</i> (~ 5x10 ⁴ CFU/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Mycoplasma genitalium* dargestellt.

Absolute numbers of reported individual results.

*Note: only the **M.genitalium-specific results** are depicted in this table*

<i>n = 97</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>					<i>Inhibition</i>			
	<i>2115471</i>	<i>2115472</i>	<i>2115473</i>	<i>2115474</i>		<i>2115471</i>	<i>2115472</i>	<i>2115473</i>	<i>2115474</i>
Befund <i>Result</i>									
Positiv	1	0	1	92	n.d.	0	0	0	0
Negativ	96	97	96	5	nein <i>no</i>	97	97	97	97
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Mycoplasma genitalium* dargestellt.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.

*Note: only the **M.genitalium -specific results** are depicted in this table.*

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv		NAT richtig negativ <i>True negative results</i>					
	2115474		2115471		2115472		2115473	
	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	<i>%</i>	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	<i>%</i>	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	<i>%</i>	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	<i>%</i>
BioGX Mycopl. / Ureapl. (n = 5)	4	80	5	100	5	100	5	100
EUROIMMUN EUROArray STI-11 (n = 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
Mikrogen ampliCube STD Panel1(n=10)	10	100	10	100	10	100	10	100
Roche COBAS TV / MG (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100

Seegene Allplex STI Essential (n = 26)	26	100	25	96	26	100	26	100
Seegene Anyplex STI-5 Detection (n= 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
LightMix modular M.genitalium (n =5)	5	100	5	100	5	100	5	100
RIDAGENE STI Myc. Panel (n = 9)	8	89	9	100	9	100	9	100
Other commercial tests (n = 20)	17	85	20	100	20	100	19	95
In house PCR assay [28] (n = 12)	12	100	12	100	12	100	12	100

Tabelle 4: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Gardnerella vaginalis* dargestellt.

Absolute numbers of reported individual results.

Note: only the *G.vaginalis*-specific results are depicted in this table

n = 21	Probennummer (Sample no.)					Inhibition			
	2115471	2115472	2115473	2115474		2115471	2115472	2115473	2115474
Befund Result									
Positiv	20	0	0	1	n.d.	0	0	0	0
Negativ	1	21	21	20	nein no	21	21	21	21
Fraglich Questionable	0	0	0	0	ja yes	0	0	0	0

Tabelle 5: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Gardnerella vaginalis* dargestellt.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.

Note: only the *G.vaginalis* -specific results are depicted in this table.

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv		NAT richtig negativ True negative results					
	2115471		2115472		2115473		2115474	
	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%
AID GenID STI (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
BIORON RealLine G.vaginalis (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Seegene Allplex Bact. Vaginosis plus (n = 6)	6	100	6	100	6	100	6	100
Other commercial tests (n = 5)	4	80	5	100	5	100	4	80
In house PCR assay [28] (n = 8)	8	100	8	100	8	100	8	100

Tabelle 6: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Ureaplasma parvum* dargestellt.

Absolute numbers of reported individual results.

Note: only the *U.parvum* -specific results are depicted in this table

<i>n</i> = 61	Probennummer (Sample no.)					Inhibition			
	2115471	2115472	2115473	2115474		2115471	2115472	2115473	2115474
Befund <i>Result</i>									
Positiv	1	60	0	0	n.d.	0	0	0	0
Negativ	60	1	61	61	nein <i>no</i>	61	61	61	61
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 7: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Ureaplasma parvum* dargestellt.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.

Note: only the *U.parvum* -specific results are depicted in this table.

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv		NAT richtig negativ <i>True negative results</i>					
	2125472		2125471		2125473		2125474	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
BioGX Mycopl. / Ureapl. (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
EUROIMMUN EUROArray STI-11 (n = 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
Seegene Allplex STI Essential (n = 26)	26	100	26	100	26	100	26	100
Seegene Anyplex STI-7 Detection (n= 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Seegene Anyplex STI-5 Detection (n= 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
LightMix modular UU/UP (n =2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Other commercial tests (n = 11)	10	91	10	91	11	100	11	100
<i>In house</i> PCR assay [28] (n = 8)	8	100	8	100	8	100	8	100

- Comments:**
- ¹⁾ *Mycoplasma hominis*-detection was performed by 89 laboratories. With the exception of 3 laboratories, with false positive results, all reported results were correct.
 - ²⁾ *Ureaplasma urealyticum*-detection was performed by 70 laboratories. With the exception of 1 laboratory, with 1 false positive result, all reported results were correct. 6 of them reported a positive result for sample # 2115472, containing *U. parvum*. This shows that the applied tests can not differentiate between the two different species.
 - ³⁾ *Trichomonas vaginalis*-detection was performed by 80 laboratories. With the exception of 2 laboratories, with false positive results, all reported results were correct.
 - ⁴⁾ *Treponema pallidum*-detection was performed by 41 laboratories. With the exception of 1 laboratory, with one false positive result, all reported results were correct.

**PCR-/NAT *Pneumocystis jirovecii*
 (RV 560) Mai 2021**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2115601	++	61	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (~ 1x10 ⁵ organisms/mL)
2115602	+	61	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (~ 1x10 ⁴ organisms/mL)
2115603	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
2115604	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n = 122</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>					<i>Inhibition</i>			
	<i>2115601</i>	<i>2115602</i>	<i>2115603</i>	<i>2115604</i>		<i>2115601</i>	<i>2115602</i>	<i>2115603</i>	<i>2115604</i>
Befund <i>Result</i>									
Positiv	117	106	0	0	n.d.	0	0	0	0
Negativ	5	16	122	122	nein <i>no</i>	122	122	122	122
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>				NAT richtig negativ <i>True negative results</i>			
	2115601		2115602		2115603		2115604	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
Altona RealStar P. <i>jirovecii</i> (n = 14)	14	100	14	100	14	100	14	100
Amplex eazyplex P. <i>jirovecii</i> (n = 8)	5	63	3	38	8	100	8	100
AmpliGnost P. <i>jirovecii</i> (n = 9)	9	100	8	89	9	100	9	100
BioGX P. <i>jirovecii</i> (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
LightMix P. <i>jirovecii</i> (n = 11)	11	100	11	100	11	100	11	100
RIDAGENE P. <i>jirovecii</i> (n = 30)	29	97	25	83	30	100	30	100
Other commercial tests (n = 14)	13	93	12	86	14	100	14	100

In house PCR assay (n = 31)	31	100	28	90	31	100	31	100
------------------------------------	-----------	------------	-----------	-----------	-----------	------------	-----------	------------

Comments: ¹⁾ As sample # 2115602 contained a low number of *Pneumocystis jirovecii* target organisms, negative PCR results were not scored.